



Borsa di studio attivata ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021

Titolo del progetto: Trasformazione e riutilizzo di scarti e sottoprodotti di aziende agroalimentari mediante recupero di principi attivi e sviluppo di dispositivi medici a base di sostanze, integratori alimentari, in un'ottica di economia circolare.

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo:

BIOLOGIA AMBIENTALE ED EVOLUZIONISTICA

Responsabile scientifico: Dr.ssa Daniela De Vita - Dr. Alfredo Miccheli

Area per la quale si presenta la richiesta: GREEN

Numero di mensilità da svolgere in azienda: 12

Numero di mensilità da svolgere all'estero: 6 presso Leibniz Institute of Plant Biochemistry-Department: cell and metabolic biology.

Azienda: ViVita pharma Srl startup innovativa di Università La Sapienza, sede operativa presso il Tecnopolo Tiburtino Via Adriano Olivetti 24, Roma

Il Dipartimento è disponibile a cofinanziare per un importo pari a euro: 10.000,00 euro

Dipartimento finanziatore: DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA AMBIENTALE con delibera del 21/09/2021

Progetto di ricerca:

Il progetto si pone come obiettivo la trasformazione e riutilizzo di scarti e sottoprodotti di aziende agroalimentari (vinacce, semi e scarti di potatura dalla filiera vitivinicola, buccia di melograno, frutti di kiwi e carote nere scartati per dimensione e forma, parte solida del processo di trasformazione della barbabietola rossa nella produzione di succhi), con recupero di principi attivi e sviluppo di formulazioni per dispositivi medici a base di sostanze, integratori alimentari, in un'ottica di economia circolare con creazione di valore aggiunto. L'obiettivo del progetto è in linea con gli obiettivi comunitari che sostengono la transizione verso un'economia circolare e sostenibile.

Il 2 dicembre 2015 la Commissione Europea ha redatto un ambizioso piano d'azione in ambito di Economia Circolare composto da misure relative all'intero ciclo di vita dei prodotti, dalla progettazione all'approvvigionamento, alla produzione e al consumo fino alla gestione dei rifiuti e al mercato delle materie prime secondarie. Il passaggio a un'economia circolare rappresenta una parte significativa degli sforzi per modernizzare e trasformare l'economia europea, orientandola in una direzione più sostenibile. Nella direttiva (UE) 2018/851 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 maggio 2018 che modifica la direttiva 2008/98/CE relativa ai rifiuti si ribadisce l'intenzione di potenziare il mercato dei sottoprodotti e così ridurre la produzione dei rifiuti. Riportando a titolo esemplificativo il settore vitivinicolo, ogni anno in Italia viene prodotta una grande quantità di scarti, circa 2.000.000 t di rifiuti solidi dalla trasformazione delle uve, corrispondenti più o meno al 20% in sostanza secca della produzione di uva. Attualmente gli scarti della filiera vitivinicola sono di valore quasi nullo ed in alcuni casi possono rappresentare anche un costo aggiuntivo per il produttore vinicolo che li deve smaltire (Legge 2016, n 238). La detenzione delle vinacce e delle fecce negli stabilimenti enologici è vietata a decorrere dal 30° giorno successivo a quello dell'ottenimento. Le vinacce, fermentate e non, sono i principali sottoprodotti solidi del processo di vinificazione del vino bianco e rosso. Tali scarti vengono prodotti in un periodo limitato dell'anno e il loro smaltimento costituisce, nella maggior parte dei casi, un onere per le aziende vitivinicole poiché essi non possono essere rilasciati direttamente nell'ambiente. D'altra parte, le vinacce, formate principalmente da bucce e semi, contengono composti di grande valore (fibre, composti fenolici, lipidi e zuccheri) con potenziali applicazioni in diversi settori, come l'industria farmaceutica, chimica, dei materiali, cosmetica e alimentare.

Uno scarto cospicuo in tutte le aree della viticoltura sono anche i sarmenti (scarti di potatura), che altresì potrebbero essere riutilizzati con applicazioni innovative. Fino ad oggi tali scarti sono stati scarsamente indagati nel loro contenuto in molecole bioattive, principalmente stilbeni (resveratrolo e viniferine). Tali fenoli raggiungono il 5,8% del peso secco.

Un altro esempio di matrice vegetale particolarmente interessante e di grande attualità è lo scarto solido di lavorazione della produzione di succhi di barbabietola rossa (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *rubra*). La barbabietola contiene numerose molecole biologicamente attive tra cui betalaine, flavonoidi, polifenoli, saponine e nitrato inorganico. Attualmente, la barbabietola rossa rappresenta un'importante coltura vegetale di mercato mondiale. Negli ultimi anni, la barbabietola rossa ha attirato molta attenzione come alimento che promuove la salute grazie all'alto contenuto di nitrati. Recentemente è stato dimostrato che il nitrato alimentare vegetale ha numerosi effetti benefici sul sistema vascolare, come la riduzione della pressione sanguigna, l'inibizione dell'aggregazione piastrinica, la prevenzione o il miglioramento della funzione endoteliale, il miglioramento delle prestazioni fisiche in individui sani e in pazienti con malattia arteriosa periferica.

È molto importante sottolineare che non è possibile assumere giornalmente la quantità necessaria di principi attivi esclusivamente da prodotti vegetali freschi, sia perché non disponibili tutto l'anno sia perché dovrebbero essere ingeriti quotidianamente ed in dosi elevate. L'assunzione sotto forma di integratori alimentari rappresenta una valida soluzione, considerando anche la possibilità di associare più estratti potenziando la loro funzionalità grazie all'azione sinergica tra i principi attivi.

Il progetto di dottorato sarà quindi condotto in stretta collaborazione con la startup innovativa di Sapienza ViVita pharma Srl, la quale svilupperà una gamma di prodotti topici (dermocosmetici e dispositivi medici a base di sostanze) e sistemici (integratori alimentari), valorizzando i risultati ottenuti dalla ricerca proposta nel progetto.

L'attività del dottorando presso l'impresa sarà uno dei fattori fondamentali per implementare l'innovazione nell'azienda grazie al trasferimento tecnologico dei risultati della ricerca con conseguente valorizzazione economica.

Il dottorando nel periodo di attività di ricerca svolta in azienda avrà la possibilità di ottenere un riscontro pratico dei propri risultati inseriti in un contesto di mercato.

Il gruppo di ricerca di riferimento di Sapienza durante il progetto di dottorato seguirà le aziende nel conferimento degli scarti che avverrà in fasi diverse a seconda della stagionalità del rifiuto/sottoprodotto. Saranno eseguite metodiche estrattive ottimizzate in anni di ricerca che permetteranno di ottenere estratti ad alto contenuto di sostanze bioattive. Le diverse matrici vegetali saranno sottoposte a processi di estrazione dopo aver ridotto le dimensioni della biomassa tramite triturazione, allo scopo di ridurre le dimensioni del materiale da estrarre incrementando la superficie di estrazione. In funzione della matrice da trattare, verranno applicati opportuni pretrattamenti per favorire la successiva estrazione dei principi attivi; potrà essere applicato un pretrattamento con ultrasuoni, un metodo non inquinante, relativamente poco costoso e adatto a quasi tutti i tipi di matrici. In alternativa potranno essere scelti pretrattamenti di tipo termico, chimico o enzimatico. Il materiale pretrattato verrà successivamente sottoposto all'estrazione solido-liquido preferendo mezzi estraenti ecosostenibili, come i fluidi supercritici, che oltre a rispettare l'ambiente evitano la presenza indesiderata di residui di solventi di estrazione tossici nei prodotti finiti destinati all'uomo. Inoltre i processi di estrazione verranno eseguiti nelle condizioni di temperatura e pressione opportune per evitare fenomeni di degradazione delle molecole bioattive presenti nella matrice. Gli estratti verranno caratterizzati qualitativamente e quantitativamente utilizzando tecniche cromatografiche, come la cromatografia liquida ad elevate prestazioni (HPLC), la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa (LC-MS) e la spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR) multinucleare e multidimensionale (Laboratorio NMLab Sapienza).

La caratterizzazione fitochimica degli estratti ottenuti dalle varie matrici vegetali sopra descritte consentirà di identificare fitocomplessi e principi attivi che verranno testati per attività biologiche di interesse aziendale, al fine di sviluppare nuovi prodotti con attività antifungina, antibatterica, antivirale, antinvecchiamento, antiossidante, anti-radicalica, modulatoria di pressione e fluidificante a livello circolatorio, nonché preventiva e/o curativa da danni attinici e da radiazioni ionizzanti e non.

L'azienda ViVita pharma Srl, presso la quale il dottorando svolgerà la sua attività per 12 mesi, è dotata di strumentazioni di ultima generazione e tecnologia per lavorare le diverse matrici vegetali ed ottenere gli estratti con

tecniche di estrazione green.

Si prevede inoltre che il dottorando/a svolgerà un'attività della durata di 6 mesi all'estero, presso Leibniz Institute of Plant Biochemistry-Department: cell and metabolic biology per svolgere analisi cromatografiche a fase mobile liquida in LC-MS, le quali permetteranno di identificare le molecole presenti in campioni di interesse scientifico e aziendale. Le attività previste nel progetto di dottorato sono coerenti con gli obiettivi di formazione e ricerca caratterizzanti il corso di dottorato in Biologia Ambientale ed Evoluzionistica a cui fa riferimento il suddetto progetto.

Le attività previste nel progetto rientrano negli obiettivi 3 e 12 dell'Agenda 2030 per lo Sviluppo Sostenibile: assicurare la salute e il benessere per tutti e per tutte le età e garantire modelli sostenibili di produzione e di consumo riducendo in modo sostanziale la produzione di rifiuti attraverso il riciclo e il riutilizzo con creazione di valore aggiunto.

Bibliografia

De Vita, D., et al. (2014). Activity of caffeic acid derivatives against *Candida albicans* biofilm. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24(6), 1502-1505.

Fidelis, M., et al. (2019). Fruit seeds as sources of bioactive compounds: Sustainable production of high value-added ingredients from by-products within circular economy. *Molecules*, 24(21), 3854.

Giampaoli, O... & Miccheli, A. (2021). Red Beetroot's NMR-Based Metabolomics: Phytochemical Profile Related to Development Time and Production Year. *Foods*, 10(8), 1887.

Simonetti, G., et al. (2014). Evaluation of anti-*Candida* activity of *Vitis vinifera* L. seed extracts obtained from wine and table cultivars. *BioMed Research International*.

Simonetti, G., et al. (2017). AntiDermatophyte and AntiMalassezia Activity of Extracts Rich in Polymeric Flavan3ols Obtained from *Vitis vinifera* Seeds. *Phytotherapy Research*, 31(1), 124-31.

Titolo del progetto (inglese): Transformation and reuse of waste and by-products from agro-food companies through recovery of active ingredients and development of substance-based medical devices, food supplements, in a circular economy perspective.

Progetto di ricerca (inglese):

The project aims at transforming and reusing waste and by-products from agri-food companies (marc, seeds and pruning waste from the wine production chain, pomegranate peel, kiwi fruit and black carrots discarded because of their size and shape, solid part of the red beet processing in juice production), with recovery of bioactive compounds and development of formulations for substance-based medical devices, food supplements, in a circular economy perspective with production of value-added food ingredients. The aim of the project is consistent with EU objectives supporting the transition to a circular and sustainable economy.

On 2 December 2015, the European Commission drew up an ambitious Circular Economy action plan consisting of measures covering the entire life cycle of products, from planning to sourcing, production and consumption through to waste management and the market for secondary raw materials. The move towards a circular economy is a significant part of the efforts to modernise and transform the European economy, moving it in a more sustainable direction. In Directive (EU) 2018/851 of the European Parliament and of the Council of 30 May 2018 amending Directive 2008/98/EC on waste, the intention to enhance the market for by-products and thus reduce waste generation is reiterated. Using the wine sector as an example, a large amount of waste is produced every year in Italy, about 2,000,000 t of solid waste from grape processing, corresponding more or less to 20% in dry matter of grape production. Currently, waste from the wine chain is of almost no value and in some cases can even represent an additional cost for the wine producer who has to dispose of it (Law 2016, n 238). The detention of marc and lees in wine-making establishments is prohibited from the 30th day after they are obtained. The marc, fermented and

unfermented, are the main solid by-products of the white and red wine vinification process. This waste is produced in a limited period of the year and its disposal is, in most cases, a burden for wineries as it cannot be released directly into the environment. On the other hand, marc, consisting mainly of skins and seeds, contains valuable compounds (fibres, phenolic compounds, lipids and sugars) with potential applications in various sectors, such as the pharmaceutical, chemical, materials, cosmetics and food industries.

Vine shoots (pruning waste) are also a significant waste in all areas of viticulture and could also be reused with innovative applications. Up to now, this waste has been poorly investigated in terms of its content of bioactive molecules, mainly stilbenes (resveratrol and viniferins). These phenols reach 5.8% of dry weight.

Another example of a particularly interesting and highly relevant plant matrix is the solid processing waste from red beet (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *rubra*) juice production. Beetroot contains numerous biologically active molecules including betalains, flavonoids, polyphenols, saponins and inorganic nitrate. Currently, red beet is an important vegetable crop on the world market. In recent years, red beet has attracted much attention as a health-promoting food due to its high nitrate content. Recently, dietary plant nitrate has been shown to have numerous beneficial effects on the vascular system, such as reducing blood pressure, inhibiting platelet aggregation, preventing or improving endothelial function, and improving physical performance in healthy individuals and in patients with peripheral arterial disease.

It is very important to emphasise that it is not possible to take the necessary amount of active ingredients exclusively from fresh plant products on a daily basis, either because they are not available all year round or because they should be ingested daily and in high doses. Taking them in the form of food supplements is a good solution, also considering the possibility of combining several extracts to enhance their functionality thanks to the synergistic action of the active ingredients.

The PhD project will therefore be conducted in close collaboration with Sapienza's innovative startup ViVita pharma Srl, which will develop a range of topical (dermocosmetics and substance-based medical devices) and systemic (food supplements) products, exploiting the results obtained from the research proposed in the project.

The activity of the doctoral student in the company will be one of the fundamental factors for implementing innovation in the company thanks to the technological transfer of the research results with consequent economic valorisation. During the period of research activity carried out in the company, the doctoral student will have the opportunity to obtain practical feedback on their results in a market context.

During the PhD project, the Sapienza research group will follow the companies in the transfer of waste, which will take place in different phases depending on the seasonality of the waste/sub-product. Extraction methods, optimised through years of research, will be used to obtain extracts with a high content of bioactive substances.

The different plant matrices will be subjected to extraction processes after reducing the size of the biomass by shredding, in order to reduce the size of the material to be extracted by increasing the extraction surface. Depending on the matrix to be treated, appropriate pre-treatments will be applied to facilitate the subsequent extraction of the active ingredients; ultrasonic pre-treatment can be applied, which is a non-polluting, relatively inexpensive method suitable for almost all types of matrices. Alternatively, thermal, chemical or enzymatic pre-treatment can be chosen.

The pre-treated material will then be subjected to solid-liquid extraction, preferring eco-friendly solvents, such as supercritical fluids, which not only respect the environment but also avoid the undesired presence of toxic residues in the final products for human use. In addition, the extraction processes will be carried out under appropriate temperature and pressure conditions to avoid degradation of the bioactive molecules present in the matrix. The extracts will be qualitatively and quantitatively characterised using chromatographic techniques, such as high performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS) and multinuclear and multidimensional nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy (NMLab Sapienza).

The phytochemical characterisation of the extracts obtained from the various plant matrices described above will make it possible to identify phytocomplexes and active ingredients that will be tested for biological activities of interest to the company, in order to develop new products with antifungal, antibacterial, antiviral, anti-ageing, antioxidant, anti-radical, pressure modulating and circulatory fluidifying activities, as well as preventive and/or curative action against actinic damage and ionising and non-ionising radiation.

The company ViVita Pharma Srl, where the PhD student will work for 12 months, is equipped with the latest equipment and technology for processing the various plant matrices and obtaining extracts using green extraction techniques.

It is also expected that the PhD student will carry out a 6-month activity abroad, at the Leibniz Institute of Plant Biochemistry-Department: cell and metabolic biology to perform liquid chromatographic analysis by LC-MS, which will allow the identification of molecules present in samples of scientific and business interest.

The activities planned in the PhD project are consistent with the training and research objectives of the PhD course in Environmental and Evolutionary Biology to which the above-mentioned project refers.

The activities planned in the project fall within the scope of goals 3 and 12 of the 2030 Agenda for Sustainable Development: to ensure health and well-being for all and all ages and ensure sustainable patterns of production and consumption by substantially reducing waste production through recycling and reuse with value creation.

References

De Vita, D., et al. (2014). Activity of caffeic acid derivatives against *Candida albicans* biofilm. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24(6), 1502-1505.

Fidelis, M., et al. (2019). Fruit seeds as sources of bioactive compounds: Sustainable production of high value-added ingredients from by-products within circular economy. *Molecules*, 24(21), 3854.

Giampaoli, O... & Miccheli, A. (2021). Red Beetroot's NMR-Based Metabolomics: Phytochemical Profile Related to Development Time and Production Year. *Foods*, 10(8), 1887.

Simonetti, G., et al. (2014). Evaluation of anti-*Candida* activity of *Vitis vinifera* L. seed extracts obtained from wine and table cultivars. *BioMed Research International*.

Simonetti, G., et al. (2017). AntiDermatophyte and AntiMalassezia Activity of Extracts Rich in Polymeric Flavan3ols Obtained from *Vitis vinifera* Seeds. *Phytotherapy Research*, 31(1), 124-31.